

(19)



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets

(11) Veröffentlichungsnummer: **0 642 831 A1**

(12)

**EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(21) Anmeldenummer: 94113574.1

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: **B01L 7/00, B01L 9/06**

(22) Anmeldetag: 31.08.94

(30) Priorität: 10.09.93 CH 2717/93

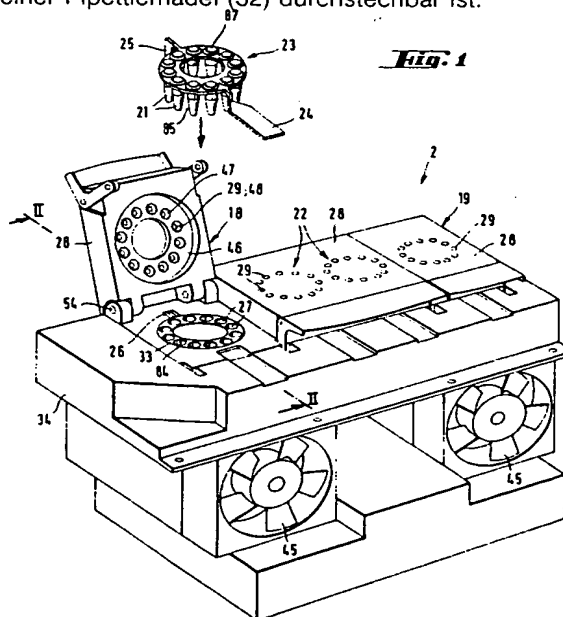
(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
15.03.95 Patentblatt 95/11(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL  
PT**(71) Anmelder: **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG**  
**Postfach 3255**  
**CH-4002 Basel (CH)**(72) Erfinder: **Moser, Rolf**  
**Vogelsang**  
**CH-6354 Vitznau (CH)**  
Erfinder: **Birrer, Lukas**  
**17 Rodteggstrasse**  
**CH-6005 Luzern (CH)**(74) Vertreter: **Ventocilla, Abraham et al**  
**Grenzacherstrasse 124**  
**Postfach 3255**  
**CH-4002 Basel (CH)**(54) **Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Temperaturzyklen.**

(57) Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Temperaturzyklen in einer Vielzahl von Proberöhrchen, wobei jedes Proberöhrchen mit einem Verschluss verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält: a) ein Träger, der eine Anordnung von Kammern zur Aufnahme der Proberöhrchen hat, wobei jede Kammer dazu geeignet ist, ein Proberöhrchen aufzunehmen, und

wobei der Träger (33) aus einem Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Aussenwand hat, wobei jede der Kammer (27) des Trägers (33) eine Oeffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt,

b) eine computergesteuerte Steuer- und Regelungseinrichtung, und c) durch die Steuer- und Regelungseinrichtung gesteuerte Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Trägers. Zur Verringerung der Abmessungen der Vorrichtung und der erforderlichen Leistung für deren Betrieb ist die Vorrichtung dadurch gekennzeichnet, dass die Anordnung der Kammer (27) im Träger (33) ringförmig ist, und dass der Verschluss (87) jedes Proberöhrchens (21) mit

einer Pipettiernadel (32) durchstechbar ist.

**EP 0 642 831 A1**

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Temperaturzyklen in einer Vielzahl von Proberöhrchen, wobei jedes Proberöhrchen mit einem Verschluss verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

- a) ein Träger, der eine Anordnung von Kammern zur Aufnahme der Proberöhrchen hat, wobei jede Kammer dazu geeignet ist, den unteren Teil eines Proberöhrchen aufzunehmen, und wobei der Träger aus einem Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Aussenwand hat, wobei jede der Kammer des Trägers eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt,
- b) eine computergesteuerte Steuer- und Regelungseinrichtung, und
- c) durch die Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Trägers.

Die Erfindung betrifft insbesondere eine Vorrichtung dieser Art, die vorzugsweise als integrierter Bestandteil eines automatischen Analysengerätes zur Durchführung der Polymerase-Kettenreaktion ("Polymerase-Chain-Reaction") geeignet ist.

Eine Vorrichtung der oben erwähnten Art ist in der EP-A- 0 236 069 A2 beschrieben. In dieser bekannten Vorrichtung sind die Proberöhrchen matrixartig angeordnet, was die Erzielung einer gleichmässigen Temperatur bei allen Proberöhrchen erschwert. Die nach der EP-A 0 236 069 A2 gebaute Vorrichtung ist relativ sperrig und ihrem Betrieb erfordert eine relativ grosse Leistung. Sie ist daher nicht dazu geeignet, als integrierter Bestandteil eines modernen automatischen Analysengerätes verwendet zu werden.

Vorrichtungen der eingangs genannten Art werden "Thermalcycler" genannt. Diese Bezeichnung wird in der nachstehenden Beschreibung verwendet.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde eine Vorrichtung der eingangs erwähnten Art zur Verfügung zu stellen, die möglichst kleine Abmessungen hat und deren Betrieb eine möglichst geringe Leistung erfordert.

Erfindungsgemäss wird diese Aufgabe mit einer Vorrichtung der eingangs genannten Art gelöst, die dadurch gekennzeichnet ist, dass die Anordnung der Kammer im Träger ringförmig ist, und dass der Verschluss jedes Proberöhrchens mit einer Pipettiernadel durchstechbar ist.

Die wesentlichen Vorteile der erfindungsgemässen Vorrichtung liegen darin, dass Sie die relativ kleine Abmessungen hat und deren Betrieb eine relativ geringe Leistung erfordert, so dass sie dazu geeignet ist, als integrierter Bestandteil eines auto-

matischen Analysengerätes verwendet zu werden.

#### Beschreibung eines Ausführungsbeispiels

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung wird im folgenden anhand der beiliegenden Zeichnungen beschrieben. Es zeigen:

- Fig. 1 einen aus einem Analysengerät herausgenommenen Thermalcycler-Teil 2, der erfindungsgemässe Thermalcycler 18 und 19 enthält, wobei der Thermalcycler 18 geöffnet und einen daraus entnommenen Proberöhrchenring 23 gezeigt wird,
- Fig. 2 einen Schnitt durch die Linie II- II in Fig. 1, wobei der Thermalcycler 18 geschlossen ist,
- Fig. 3 eine perspektivische Ansicht des Thermalcyclers 18 gemäss Fig. 1, welcher durch eine Aushebevorrichtung 53 ergänzt ist,
- Fig. 4 einen gegenüber Fig. 2 vergrösserten Schnitt durch den Thermalcycler im geschlossenen Zustand,
- Fig. 5 einen Thermalcycler gemäss Fig. 4 im geöffneten Zustand,
- Fig. 6 eine schematische Darstellung einer "Master-Slave"-Steuerung zur Regelung und Ueberwachung der Betriebsparameter eines erfindungsgemässen Thermalcyclers,
- Fig. 7 ein Temperatur-Zeit-Diagramm eines im Master-Prozessor gespeicherten Temperaturverlaufes bzw. die daraus resultierenden Temperaturen des Thermoblocks und der Probe.
- Fig. 8 eine perspektivische Explosionsdarstellung der Einzelteile 92 bzw. 95 einer Probenöhrchenanordnung 23, die in einem erfindungsgemässen Thermalcycler einsetzbar ist,
- Fig. 9 die Einzelteile 92 bzw. 95 gemäss Fig. 8 zusammengeführt und mit den Proberöhrchen der dadurch gebildeten Probenöhrchenanordnung 23 im offenen Zustand,
- Fig. 10 die Einzelteile 92 bzw. 95 gemäss Fig. 8 zusammengeführt und mit den Proberöhrchen der dadurch gebildeten Probenöhrchenanordnung 23 im geschlossenen Zustand,
- Fig. 11 einen Schnitt eines Proberöhrchens 21 in Fig. 9 mit offenen Deckel 87,
- Fig. 12 einen Schnitt eines Proberöhrchens 21 in Fig. 9 mit geschlossenem Deckel 87,
- Fig. 13 eine perspektivische Gesamtdarstellung eines Analysengerätes, welches

als Bestandteil einen erfindungsgemässen Thermalcycluser-Teil 2 beinhaltet.

#### Thermalcycluser

In der nachstehenden Beschreibung wird mit Thermalcycluser eine Vorrichtung bezeichnet, die zur automatischen Durchführung von Temperaturzyklen in wenigstens einem mit einem Verschluss geschlossenen Proberöhrchen 21 dient, das ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält.

Nachstehend wird ein erfindungsgemässer Thermalcycluser beschrieben, der vorzugsweise als Bestandteil eines automatischen Analysengerätes zur Durchführung der Polymerase-Kettenreaction geeignet ist. Das Analysengerät ist beispielsweise zur Durchführung von Immunoassays ausgelegt.

In Fig. 1 ist ein Thermalcycluser-Teil 2 aus einem Analysengerät 1 gemäss Fig. 13 ausgebaut dargestellt. Dieser Thermalcycluser-Teil 2 enthält z.B. zwei identische Thermalcycluser 18, 19 und eine Stand-by Position 22. Die nachstehende Beschreibung des Thermalcycluser 18 gilt auch für den Thermalcycluser 19.

Der Thermalcycluser 18 enthält folgende Komponenten :

- a) einen Thermoblock 33, der als Träger der Proberöhrchen dient, und der eine ringförmige Anordnung von Ausnehmungen 27 hat, wobei jede Ausnehmung als Kammer zur Aufnahme des unteren Teils eines der Proberöhrchen 21 dient,
- b) eine in Fig. 6 dargestellte computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und
- c) durch diese Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Heiz- bzw. Kühlelemente als Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Thermoblocks 33.

Der Thermoblock (33) besteht aus einem Material, das eine hohe thermische Leitfähigkeit hat. Der Thermoblock 33 ist vorzugsweise ein Körper aus Aluminium oder Silber. Der Thermoblock (33) hat eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Aussenwand, wobei jede der Ausnehmungen (27) des Thermoblocks (33) eine Oeffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt.

Wie in Figuren 1 und 3 dargestellt, sind z.B. zwölf Proberöhrchen 21 zu einem Proberöhrchenring 23 zusammengefasst. Die Proberöhrchen 21 sind im unteren Bereich konisch, im oberen Bereich zylindrisch geformt und durch einen Deckel 87 dicht verschlossen. Wie in Fig. 1 und 3 gut zu erkennen ist, kann eine derartige Proberöhrchenanordnung 23 in entsprechende Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 des Thermalcyclusers 18 eingesetzt werden.

#### Zugriff zum Inhalt eines Proberöhrchens

Der Thermalcyclusers 18 hat einen klappbaren Deckel 28, der pro Ausnehmung 27 des Thermoblocks 33 eine Oeffnung 29 aufweist, die ein Durchstechen des Verschlusses 87 des in der Ausnehmung eingesetzten Proberöhrchens 21 mit einer Pipettiernadel ermöglicht. Wie aus Fig. 2 ersichtlich, fluchtet bei geschlossener Stellung des Klappdeckels 28 jede der Oeffnungen 29 mit der Längsachse 31 des entsprechenden Proberöhrchens 21.

Die Oeffnungen 29 des Klappdeckels 28 ermöglichen den Zugriff zum Inhalt jedes Proberöhrchens bei geschlossenem Klappdeckel 28. Dafür wird die Pipettiernadel 32 einer (in Figur 3 nicht dargestellten) Pipettiereinrichtung durch eine der Oeffnungen 29 eingeführt, der Deckel 87 des Proberöhrchens 21 mit der Pipettiernadel 32 durchgestochen und anschliessend ein bestimmtes Volumen der im Proberöhrchen enthaltenen Flüssigkeit abgesaugt.

#### Wärmeübertragung zwischen Thermoblock und Proberöhrchen

Es ist aus Fig. 2 ersichtlich, dass die Ausnehmungen 27 im Thermoblock 33 an den konischen Bereich der Proberöhrchen 21 angepasst sind, so dass die Umfangswandung des Proberöhrchens 21 zuverlässig an die Innenwandung der Ausnehmung 27, zwecks bester Wärmeübertragung, zur Anlage kommen kann. Um die thermische Reaktionsgeschwindigkeit, Präzision und Homogenität zu erhöhen, ist der Thermoblock 33 möglichst wärmeisoliert in einem Gehäuse 34 gehaltert und weist wenig Masse bei guter thermischer Leitfähigkeit auf.

#### Heizelement im klappbaren Deckel des Thermalcyclusers

Der Deckel 28 enthält vorzugsweise ein Heizelement, z.B. eine elektrische Widerstandsheizung 52, die zum Beheizen der verschlossenen, im Thermoblock 33 angeordneten Proberöhrchen dient.

In einer ersten Ausführungsform des Thermalcyclusers wird die elektrische Widerstandsheizung 52 in Kombination mit einem nachstehend beschriebenen Peltier-Element 36 verwendet, um ein gewünschtes Temperaturprofil (Temperaturverlauf über ein bestimmtes Zeitintervall) im Thermoblock 33 zu erzielen. In dieser Ausführungsform wird das Peltier-Element je nach der zu erreichenden Temperatur innerhalb eines Temperaturprofils als Kühlelement oder als Heizelement verwendet.

Die Zusammenwirkung der elektrischen Widerstandsheizung 52 mit dem Peltier-Element 36 er-

möglichst, die erforderliche Schnelligkeit der Temperaturänderungen des Thermoblocks 33 sowie die erforderliche Präzision und Homogenität der Temperaturverteilung zu erreichen. Durch die Wirkung der Widerstandsheizung 52 wird ausserdem eine etwaige Kondensatbildung im Deckelbereich des Proberöhrchens 21 vermieden.

#### Verschliess- und Anpresseeinrichtung des Klappdeckels des Thermalcyclers

Der Klappdeckel 28 enthält vorzugsweise eine Verschliess- und Anpresseeinrichtung zum Festhalten der verschlossenen, im Thermoblock 33 angeordneten Proberöhrchen 21. Hierfür weist der Klappdeckel 28 eine federnd gehaltene Andruckplatte 46 auf, welche jeden Proberöhrchen 21 mit einer definierten Kraft in die Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 hineindrückt. Ausnehmungen 47 zur Aufnahme der kalottenförmigen Deckel 87 der Proberöhrchen 21 sowie Durchstichöffnungen 48 für die Pipettirnadel 32 sind koaxial zu den Proberöhrchen 21 in der Andruckplatte 46 vorgesehen. Als Federelement kann eine Wellscheibe 49 vorgesehen sein. Durch einen Sicherungsring 51 ist die Andruckplatte 46 bei geöffnetem Klappdeckel 28 gegen Herausfallen gesichert.

Die oben erwähnte Widerstandsheizung 52 ist vorzugsweise in der federnden Andruckplatte 46 enthalten.

#### Peltier-Element als Kühl- oder Heizelement

Wie in Fig. 2 dargestellt, enthält ein erfindungsgemässe Thermalcyclus 18 vorzugsweise wenigstens ein Peltier-Element 36 als Teil der im Thermalcyclus 18 vorgesehenen Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Thermoblocks 33. Das Peltier-Element 36 ist mit seiner einen Wärmeübergangsfläche 37 grossflächig mit der unteren Fläche des Thermoblocks 33 und mit seiner anderen Wärmeübergangsfläche 38 grossflächig an einen Kühlkörper 39 zur Wärmeabfuhr thermisch in Kontakt gebracht. Der Kühlkörper 39 ist vorzugsweise aus Aluminium oder Kupfer. Zur Wärmeabfuhr ist ein schaltbarer Ventilator 45 vorgesehen.

Das in Fig. 2 schematisch dargestellte Peltier-Element 36 ist vorzugsweise eine Anordnung solcher Elemente.

In der oben erwähnten ersten Ausführungsform des Thermalcyclers wird das Peltier-Element 36 als Kühl- oder als Heizelement verwendet. Diese Betriebsweise des Peltier-Elementes 36 und seine Zusammenwirkung mit der elektrischen Widerstandsheizung 52 ermöglicht, die erforderliche Temperatur des Thermoblocks innerhalb eines Temperaturprofils zu erreichen.

Zur Verlängerung der Lebensdauer des Peltier-Elementes 36 ist dieser vor thermodynamisch begründeten mechanischen Spannungsspitzen vorzugsweise dadurch geschützt, dass das Peltier-Element 36 durch eine zentrale, federvorgespannte Befestigung gegen den Thermoblock 33 gepresst gehalten wird. Hierfür wird das Peltier-Element elastisch zwischen den Wärmeübertragungsflächen des Thermoblocks 33 und des Kühlkörpers 39 eingespannt. Dafür wird der Kühlkörper 39 z.B. mittels einer Druckfeder 41 mit seiner Kontaktfläche gegen das Peltier-Element 36 gedrückt. Die Federspannung kann über eine Einstellschraube 42, Federteller 43 und ein Kugelgelenk 44 eingestellt werden, welches die Freiheitsgrade des Kühlkörpers 39 noch weiter erhöht.

#### Peltier-Element ausschliesslich als Kühlelement

In einer Variante des hier beschriebenen Ausführungsbeispiels wird das Peltier-Element 36 ausschliesslich als Kälteerzeugendes, d.h. nur als Kühlelement verwendet. Dadurch wird eine Verlängerung der Lebensdauer des Peltier-Elementes erreicht.

#### Zusätzliches Heizelement um den Thermoblock

In einer zweiten Ausführungsform des Thermalcyclers enthält dieser vorzugsweise zusätzlich eine elektrische Widerstandsheizung 35, die um den Thermoblock 33 und entlang des Umfangs seiner zylindrischen, äusseren Wand angeordnet ist. Bei Verwendung dieses zusätzlichen Heizelementes im Thermalcyclus wird das Peltier-Element 36 nur zum Kühlen verwendet. Dies bringt den Vorteil einer Entlastung des Peltier-Elements von thermisch bedingtem mechanischem Stress und trägt dadurch dazu bei die Lebensdauer des Peltier-Elements im Thermalcyclus zu verlängern.

#### Mittel zur Erkennung einer Markierung des Proberöhrchenringes

Der Thermalcyclus 18 enthält ferner vorzugsweise Mittel zur Erkennung einer Markierung der Proberöhrchenanordnung 23, z.B. eine Markierung in Form einer vertikal ausgerichteten Fahne 25. Die Fahne 25 wirkt mit einer Detektionseinrichtung 26 innerhalb des Thermalcyclers 18 zusammen, um eine Erfassung der Anwesenheit des Proberöhrchenringes 23 im Thermalcyclus 18 zu ermöglichen. Die Detektionseinrichtung 26 ist z.B. eine Lichtschranke. Die Fahne 25 lässt ausserdem nur eine einzige Positionierung der Proberöhrchenanordnung 23 im Thermoblock 33 zu. Eine Kombination dieser einzigen Positionierung mit einer Nummerierung der Verschlüsse der Proberöhrchen ermög-

licht ferner eine eindeutige Probe-Patient-Zuordnung.

Die Proberöhrchenanordnung 23 hat ferner eine Lasche 24, die z.B.z.B. als Trägerfläche für Daten über die Probeninhalte der Anordnung 23 dient, welche Daten z.B. in Form eines Strichcodes vorhanden sind.

#### Aushebevorrichtung

Durch die Temperatur-Aenderungen und der Wirkung der Feder 49 haften die konischen Bereiche der Proberöhrchen 21 an den Wänden der Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33. Die dadurch erwirkte kraftschlüssige Verbindung erschwert das Entfernen der Proberöhrchen 21 aus dem Thermalcyclus 2. Aus diesem Grunde wurde in der Ausführungsform gemäss Fig. 3 bis 5 eine Aushebevorrichtung 53 vorgeschlagen, welche die Entnahme des Proberöhrchenringes 23 aus dem Thermoblock 33 erheblich erleichtert.

Wie aus Figuren 3-5 ersichtlich enthält die Aushebevorrichtung 53 eine Wippe 55, die als Auswurfhebel dient. Die Wippe 55 ist an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels 28 verbunden. Die Wippe 55 ist am anderen Ende frei. Die Aushebevorrichtung 53 enthält ferner eine Auswurfscheibe 58, die mit der Rotationssymmetrieachse des Thermoblocks 33 konzentrisch ist, auf dem die Wippe 55 angeordnet ist. Die Auswurfscheibe 58 hat an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen 61, die zur Entnahme des Proberöhrchenringes 23 aus den Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 dienen.

Wie aus Fig. 3 ersichtlich, wird die Wippe 55 auf der Drehachse 54 des Klappdeckels 28 geführt. Drehachsenständig weist die Wippe 55 zwei Laschen 56 mit Ausnehmungen 57 auf, in welche die Drehachse 54 eingreift. Die Auswurfscheibe ist auf die Wippe 55 aufgeschraubt. Die Auswurfscheibe 58 weist an seinem peripheren Rand 59 halbkreisförmige Ausnehmungen 61 auf, welche projektiionsgenau mit den Ausnehmungen 27 im Thermoblock 33, bzw. den zylindrischen Bereichen der Proberöhrchen 21 fluchten, welche in die Ausnehmungen 27 eingesetzt sind (Fig. 5). Der periphere Rand 59 der Auswurfscheibe 58 untergreift somit den inneren flanschartigen Bereich 62 des Proberöhrchenringes 23 bzw. die Flansche der Proberöhrchen 21. Die Gestalt und Funktion der Ausnehmung 57 in den Laschen 56 der Wippe 55 im Zusammenhang mit der Drehachse 54 des Klappdeckels 28 sowie eines am Klappdeckel 28 in einem Abstand  $e$  angebrachten Steuerstiftes 63, welcher ebenso in die Ausnehmung 57 eingreift, ist aus Figuren 4 und 5 ersichtlich. Bei geschlossenem Klappdeckel 28 ist die Aushebevorrichtung 53 noch funktionslos. Beim öffnen des Klappdeckels 28 gerät der Stift 63 ab

einem gewissen Oeffnungswinkel in Kontakt mit einer Steuerfläche 64 der Ausnehmung 57 und bewirkt ein Verschwenken der Wippe 55 um den Punkt P, was ein Ausheben der Probenbehälter 21 zur Folge hat. Durch die Kippbewegung der Wippe 55 um den Punkt P bzw. durch die zunehmende Schrägstellung der Auswurfscheibe 58 wird bewirkt, dass sich die den einzelnen Proberöhrchen 21 zugeordneten Losbrechkkräfte zeitlich versetzt manifestieren, so dass die Proberöhrchen 21 nach und nach aus ihren Ausnehmungen 27 gelöst werden. Der Kraftaufwand und die Materialbeanspruchung wird dadurch auf niedrigem Niveau gehalten und der Bedienungskomfort erhöht.

#### Steuerung und Regelung des Thermalcyclers

Eine Steuer- und Regeleinrichtung eines erfindungsgemässen Thermalcyclers 18 über Master-Slave-Prozessoren 72, 73 ist in Fig. 6 schematisch dargestellt.

Die Temperatur der Andruckplatte 46 des Klappdeckels 28, des Thermoblocks 33 und der Umgebung wird mittels Temperaturfühler 65, 66, 67 erfasst und über ein Temperatur-Interface 68 dem Slave-Prozessor 73 zugeführt. Im Master-Prozessor 72 (Schnittstelle zum Benutzer) werden unter anderem die Temperatursollwerte, die Zeitsollwerte, die Anzahl der Temperaturzyklen und die Geschwindigkeit der Heiz- und Kühlvorgänge eingegeben.

Es können bereits vorbestimmte, gespeicherte Temperatur/Zeitprofile gewählt und abgefahren werden. Die Eingabe erfolgt über die Tastatur 16 oder eine andere Schnittstelle. Diese Daten werden dem Slave-Prozessor 73 zugeführt, welcher über Regler 69 einen Leistungssteller 71 ansteuert, welcher wiederum die Energieversorgung der Heizelemente 35, 52 und des Peltier-Elements 36 regelt. Die Rückmeldungen (Ist-Werte) werden über den Slave-Prozessor 73 dem Master-Prozessor 72 zugeführt und dort verarbeitet bzw. dem Benutzer angezeigt. Auf diese Weise wird der Benutzer über die momentane Probertemperatur, die bereits erreichten Temperaturen mit Zeitangabe und die noch zu erreichenden Temperaturen mit Zeitangabe informiert.

Der Betriebszustand des Systems wird ständig überwacht und protokolliert. Fehler, die nicht vom System selbst behoben werden können, bewirken eine automatische Abschaltung oder Fehlermeldung.

Die Temperatur der Probe wird aus der Temperatur des Thermoblocks 33 rechnerisch ermittelt. Dazu wird die Uebertragungsfunktion vom Probenraum zur Probe im Proberöhrchen 21 bestimmt. Diese Funktion ist im wesentlichen ein Tiefpass mit Totzeit.

Anhand geeigneter Regelalgorithmen (abgetastete Systeme) wird jeweils die Stellgröße berechnet, die nötig ist, um die Temperatur der Probe der vorgegebenen Sollwerttemperatur nachzuführen. Diese Berechnungen werden mit einem Signalprozessor durchgeführt. Die berechnete Stellgröße wird in Form einer Pulsweite dem Leistungssteller 71 zugeführt. Der Leistungssteller 71 ist z.B. ein Leistungs-FET mit einer dazu passenden Schutz- und Entstörschaltung.

Die oben beschriebene Steuerung und Regelung ermöglicht den Einsatz des Thermalcyclers um Proben in einem im Thermalcyclers eingesetzten Probenröhrchenring nach bestimmten Temperaturprofilen zu heizen und zu kühlen. Die Temperaturprofile sind definiert durch Plateau-Temperaturen definierter Dauer, und der Gradient, der die Zeit definiert, bei der eine Plateau-Temperatur erreicht sein muss. Bedingung ist, dass alle Proben im Thermalcyclus zur gleichen Zeit die gleichen Temperaturen haben.

In Fig. 8 sind beispielsweise Temperaturverläufe aus einem Zyklusprozess aufgezeigt. Kurve A zeigt den Temperaturverlauf am Thermoblock 33, die Kurve B zeigt den Temperaturverlauf der Flüssigkeit im Reaktionsbehälter 21. Mit dem Thermalcyclus können Temperaturen zwischen 40 und 98 Grad Celsius eingestellt werden. Typischerweise liegen die unteren Temperaturen zwischen 50 und 60 Grad Celsius und die oberen Temperaturen zwischen 90 und 96 Grad Celsius. Wenn die mittlere Temperatur benutzt wird, liegt sie um 72 Grad Celsius. Die mit dem Thermalcyclus erzielte Heiz-/Kühl-Geschwindigkeit beträgt 1 Grad Celsius pro Sekunde. Ein typischer Zyklus hat eine Dauer von 120 Sekunden. Wenn die entsprechende Temperaturen länger als 10 Sekunden gehalten werden müssen, verlängert sich die Zyklusdauer entsprechend.

#### Proberöhrchen

Wie insbesondere aus den Figuren 8 bis 12 ersichtlich ist, weisen die Proberöhrchen 21 einen konischen unteren Bereich 82 und einen zylindrischen oberen Bereich 81 auf. Der konische, untere Bereich 82 des Proberöhrchens 21, in welchem sich die thermisch zu behandelnde Probe befindet, ist wegen der besseren Wärmeübertragung mit einer geringeren Wandstärke versehen als der obere, zylindrische Bereich 81. Wie aus Fig. 3 erkennbar, ist der untere, konische Bereich 82 des Proberöhrchens 21 in eine entsprechend geformte Ausnehmung 27 im Thermoblock 33 des Thermalcyclers 18 passgenau einsetzbar, derart, dass die konische Innenwandung der Ausnehmung 27 im Thermoblock 33 mit der konischen Aussenwandung 85 des unteren Bereiches 82 des Proberöhrchens 21 in

vollen Kontakt kommt und somit einen bestmöglichen Wärmeübergang sicherstellt.

Die Öffnung 86 des Proberöhrchens 21 ist mittels eines Deckels 87 dicht verschliessbar. Der Deckel 87 ist zum Zwecke einer Entnahme von Probenmaterial mit einer Pipettirnadel 32 durchstechbar.

Um die Wirtschaftlichkeit zu erhöhen und das Handling der Proberöhrchen 21 zu erleichtern, sind mehrere, beispielsweise zwölf Proberöhrchen, zu einer Einheit, vorzugsweise in kreisförmiger Konfiguration zu einem Probenröhrchenring zusammengefasst und die Deckel 87 über ein Filmgelenk 91 unverlierbar angebracht.

In besonders vorteilhafter Weise ist die Proberöhrchenanordnung 23 zweiteilig ausgeführt. Das eine Teil 92 besteht aus in gleichen Winkelabständen zueinander angeordneten Proberöhrchen 21, welche an den flanschartigen, öffnungsseitigen Durchmesserergrößerungen 93 mittel dünner Stege 94 kreisförmig verbunden sind. Um eine radiale Flexibilität des Proberöhrchenringes 92 zu erreichen, was beim Zusammenführen mit dem anderen Teil 95 von Vorteil ist, sind die Stege 94 V-förmig gestaltet. Das Teil 92 wird vorzugsweise aus Polypropylen (PP) hergestellt.

Das andere Teil 95 der Probenröhrchenanordnung 23 weist kreisförmig angeordnete, durch Stege 96 miteinander verbundene Kreisinge 97 auf, dessen Innendurchmesser mit den Aussendurchmessern der zylindrischen Bereiche 81 der Proberöhrchen 21 identisch ist, und dessen Mittelpunkte mit den Längsachsen 98 der Proberöhrchen 21 fluchten. Die Stege 96 sind zur Erhaltung der radialen Elastizität V-förmig gestaltet. An den Kreisingen 97 sind radial nach aussen weisende Filmgelenke 91 angeformt, welche an ihrem Ende jeweils einen Verschlussdeckel 87 tragen. Das Teil 95 wird vorzugsweise ebenfalls aus Polypropylen (PP) hergestellt.

Um einen halben Teilungswinkel der Kreisinge 97 versetzt, radial nach aussen abragend, diametral gegenüberliegend, sind zwei Fortsätze 99 und 101 an das andere Teil 95 angeformt. Der eine Fortsatz 99 weist eine horizontale Fläche 102 auf, auf welche beispielsweise die Daten über die Proben in den Proberöhrchen 21 über einen Barcode aufgebracht sind. Der andere Fortsatz 101 in Form einer vertikal ausgerichteten Fahne wirkt mit einem Detektor 26, z.B. eine Lichtschranke, im Thermalcyclus 18 zusammen (siehe Fig. 1). Durch diese Einrichtung ist ein definiertes Einsetzen der Proberöhrchenanordnung 23 in den Thermalcyclus 2 erzwungen.

Zur besseren Uebersicht für den Operator kann die Probennummer auf den Deckellaschen des Proberöhrchens angebracht sein.

Beim Zusammenführen der beiden Teile 92, 95 der Proberöhrchenanordnung 23 (Fig. 9) kommen die Flansche 93 der Proberöhrchen 21 des einen Teiles 92 mit der Oberseite 104 der Kreisinge 97 des anderen Teiles 95 in Anlage. Durch die enge 5  
Passung zylindrischen Bereich 81/Kreisring 97 ist die Probenröhrchenanordnung 23 relativ fest vormontiert und kann mit den entsprechenden Proben befüllt werden. Danach werden die Deckel 87 umgeklappt, und deren zylindrischer Fortsatz 105 wird 10  
in der Oeffnung 86 der Proberöhrchen 21 dichtend gehalten (Fig. 10).

Die in der oben beschriebene Struktur der Probenröhrchenanordnung 23 vorgesehenen Stege 94, 96 verleihen der Probenröhrchenanordnung eine 15  
derartige Flexibilität, dass die Proberöhrchen 21 sehr leicht in den Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 eingeführt werden können, was bei einer starren Struktur der Probenröhrchenanordnung 23 sogar bei geringen Abweichungen der Abmessungen des Thermoblocks bzw. der Probenröhrchenanordnung schwierig sein kann. 20

Durch die zweiteilige Ausführung der Probenröhrchenanordnung 23 kann äusserst materialsparend und wenn zweckmässig auch mit Materialien (Kunststoff) unterschiedlicher Eigenschaften, zweckoptimiert gearbeitet werden, was bei Einwegartikeln (die Probenröhrchenanordnung wird nach Gebrauch verworfen) von Bedeutung ist. 25

#### Analysengerät mit Thermalcyclus

In Fig. 13 ist ein Analysengerät 1 dargestellt, welches beispielsweise zur Durchführung von Immunoassays ausgelegt ist.

Um die in den Proben enthaltenen, zu analysierenden Substanzen für die nachfolgenden Analyseprozesse im Volumen über die Nachweisgrenze anzuheben, ist im Analysengerät ein Thermalcyclus-Teil 2 als integrierter Bestandteil vorgesehen, der erfindungsgemässe, oben beschriebene Thermalcyclus 18 und 19 enthält, mit denen durch Anwendung der Polymerase-Kettenreaktion ein DNS-Amplifikationsverfahren durchführbar ist. 40

Um die Leistungsfähigkeit des Analysengerätes zu erhöhen, d.h. eine möglichst grosse Anzahl von Proben pro Zeiteinheit zu behandeln, ist die bereitgestellte Probenzahl auf die nachfolgenden Prozesszeiten abzustimmen, derart, dass keine Totzeiten entstehen. Beispielsweise wird dies durch die zwei unabhängig voneinander arbeitenden Thermalcyclus 18, 19, welche jeder zwölf Proberöhrchen 21 aufnehmen kann, sowie zwei "stand by"-Stationen 22 bewerkstelligt, welche ebenfalls je zwölf Proberöhrchen 21 aufnehmen können, die aus einem der Thermalcyclus 18, 19 am Ende des dort durchgeführten Verfahrens entnommen werden. 55

Desweiteren beinhaltet das Analysengerät 1 sämtliche weitere Einrichtungen zur Durchführung obengenannter Immunoassays, z.B. zwei Racks 3, 4 mit Reagenzien auf einem Schütteltisch 5, ein Rack 6 mit weiteren Reagenzien, drei Racks 7 mit Einweg-Reaktionsbehältern 8, einen temperierbaren Inkubator 9, in welchen die Reaktionsbehälter 8 eingesetzt werden, eine Wascheinrichtung 11 und eine Photometereinrichtung 12 zur Feststellung des Testergebnisses.

#### Transferkopf des Analysengeräts

Der Proben- und Reagenzientransfer sowie der Reaktionsbehältertransfer wird durch einen im x-y-Koordinatensystem bewegbaren Transferkopf 13 ermöglicht, welcher eine Pipettiereinrichtung 14 sowie einen Reaktionsbehältergreifer 15, beide in z-Richtung verfahrbar, aufweist.

Nach der Durchführung der DNS-Amplifikation in den in den Thermalcyclus 18, 19 enthaltenen Proberöhrchen 21 werden mit der Pipettiereinrichtung 14 Probenvolumina von den Proberöhrchen 21 entnommen und in Reaktionsbehälter 8 abgegeben, die in den Racks 7 angeordnet sind. Bei den mit dem Analysengerät durchgeführten Immunoassays werden die in die Reaktionsbehälter 8 abgegebene Probenvolumina untersucht. 25

#### Steuereinheit des Analysengeräts

Sämtliche durchzuführende Operationen sind durch eine zentrale Steuereinheit (nicht dargestellt) des Analysengeräts gesteuert und koordiniert. Eine Bedienoberfläche 16 bzw. Tastatur zur Eingabe von Prozessparametern, sowie eine Anzeige zur Anzeige von Prozesszuständen ist schematisch dargestellt. Die Probendaten, welche beispielsweise mittels Barcode auf den Proberöhrchen angebracht sind, können über einen manuell geführten Lesegriffel oder Scanner 17 in einen Speicher eingelesen werden. Schnittstellen für einen Printer usw. (nicht dargestellt) sind vorgesehen. 40

#### Patentansprüche

1. Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Temperaturzyklen in einer Vielzahl von Proberöhrchen, wobei jedes Proberöhrchen mit einem Verschluss verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

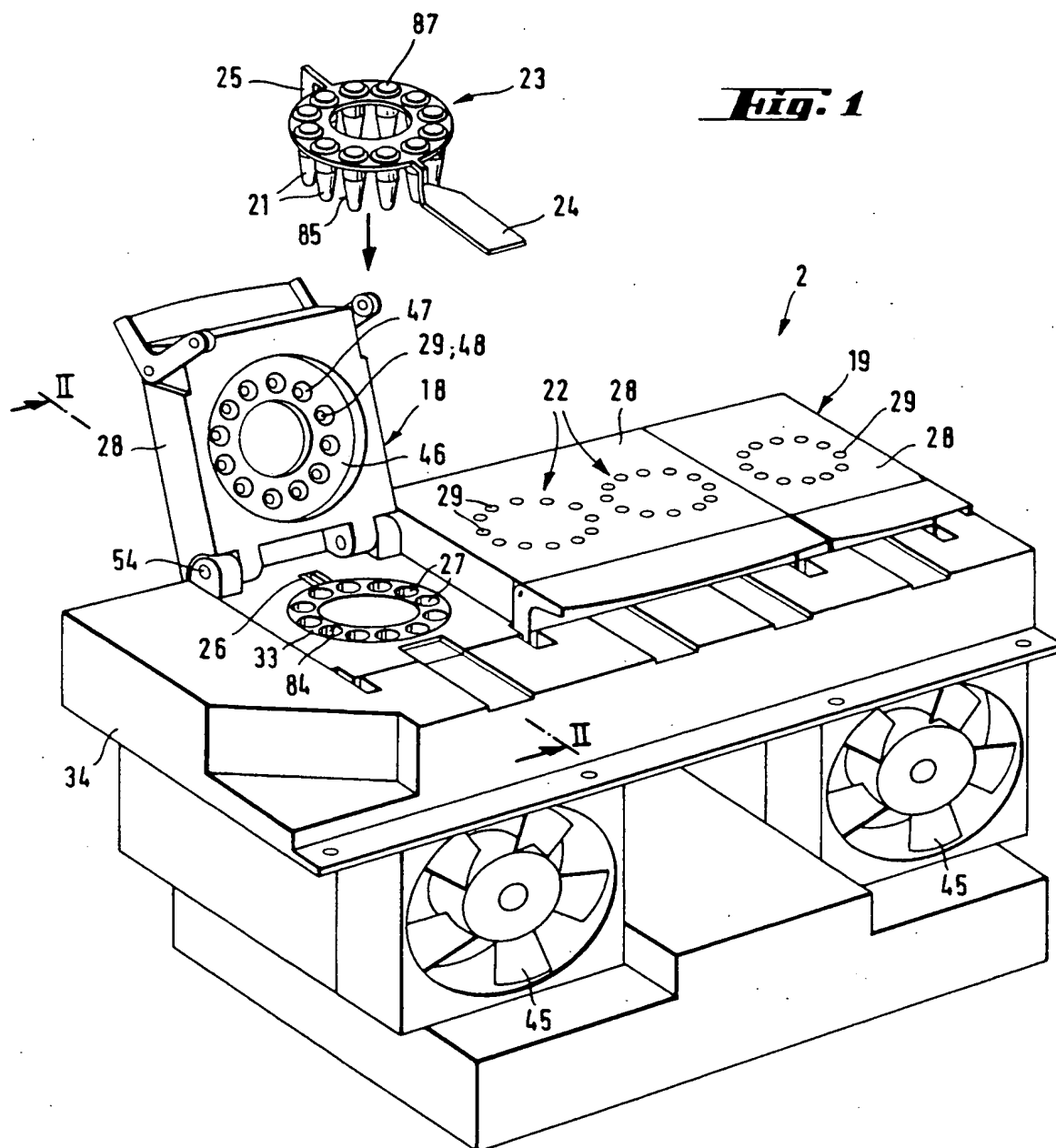
- a) ein Träger, der eine Anordnung von Kammern zur Aufnahme der Proberöhrchen hat, wobei jede Kammer geeignet ist, den unteren Teil eines Proberöhrchen aufzunehmen, und wobei der Träger (33) aus einem

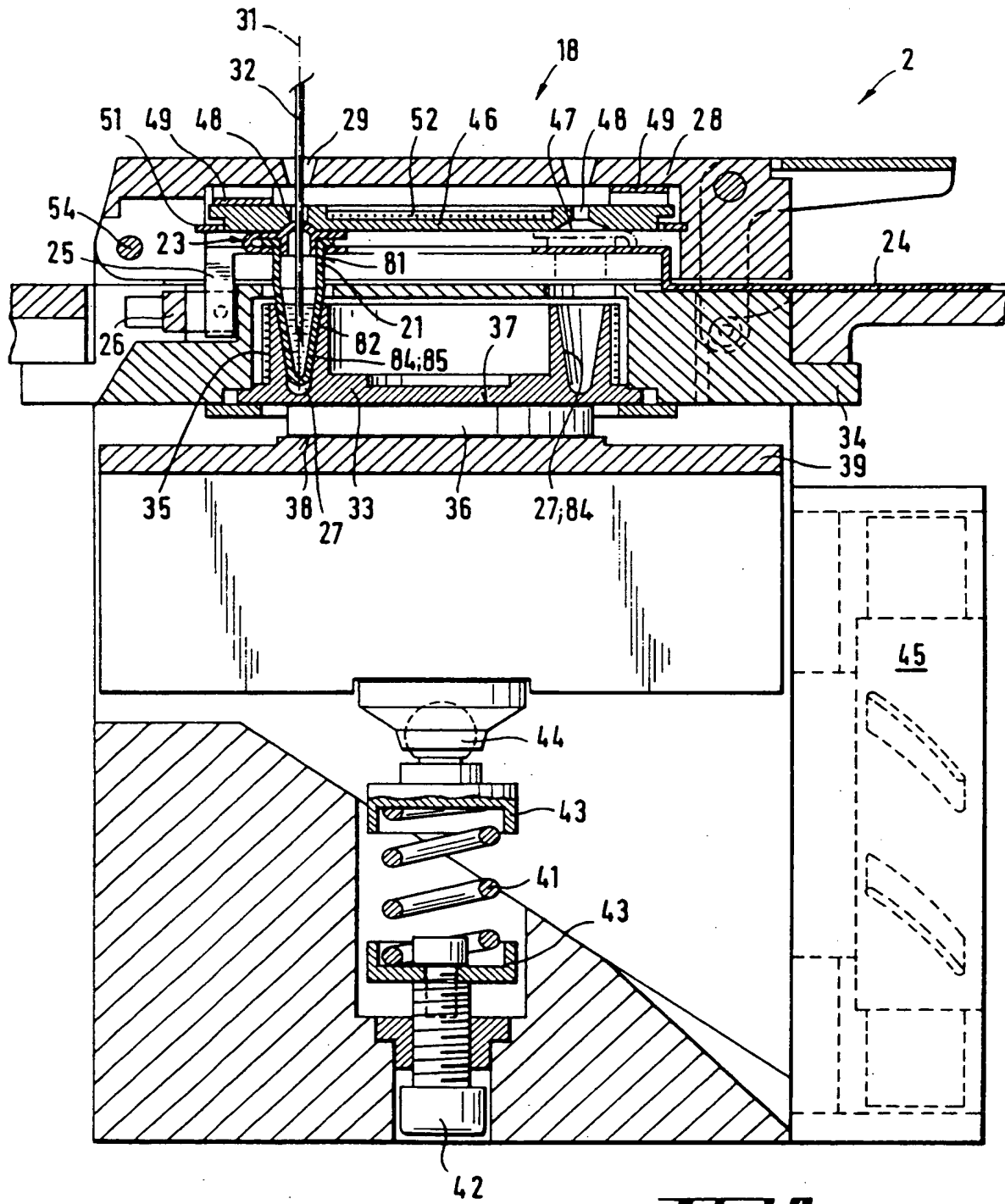
- Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Aussenwand hat, wobei jede der Kammer (27) des Trägers (33) eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt,
- b) eine computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und
- c) durch die Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Trägers,
- welche Vorrichtung dadurch gekennzeichnet ist, dass die Anordnung der Kammer (27) im Träger (33) ringförmig ist, und dass der Verschluss (87) jedes Proberöhrchens (21) mit einer Pipettirnadel (32) durchstechbar ist.
2. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Trägers als Kälte- und Wärmeerzeugendes Element wenigstens ein Peltier-Element (36 ) enthalten, das mit der unteren Fläche des Trägers thermisch verbunden ist.
  3. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Trägers wenigstens ein Peltier-Element (36 ) enthalten, das ausschliesslich als Kälteerzeugendes Element verwendet wird und das mit der unteren Fläche des Trägers thermisch verbunden ist.
  4. Vorrichtung gemäss Ansprüchen 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass das wenigstens eine Peltier-Element (36 ), durch eine zentrale, federvorgespannte Befestigung (41, 42, 43, 44) gegen den Träger (33) gepresst wird, welche Befestigung eine durch eine Schraube (42) gepresste Feder (41) enthält, deren Spannung mit der Schraube eingestellt werden kann.
  5. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie ferner einen klappbaren Deckel (28) enthält, der ein Heizelement (52) enthält, das zum Beheizen der verschlossenen, im Träger (33) angeordneten Proberöhrchen (21) dient, und der pro Kammer (27) eine Öffnung (29) aufweist, die ein Durchstechen des Verschlusses (87) des in der Kammer (27) enthaltenen Proberöhrchens (21) mit einer Pipettirnadel ermöglicht.
  6. Vorrichtung gemäss Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der klappbare Deckel (28) eine Verschluss- und Anpresseinrichtung zum Festhalten der verschlossenen, im Träger (33)

angeordneten Proberöhrchen (21) enthält.

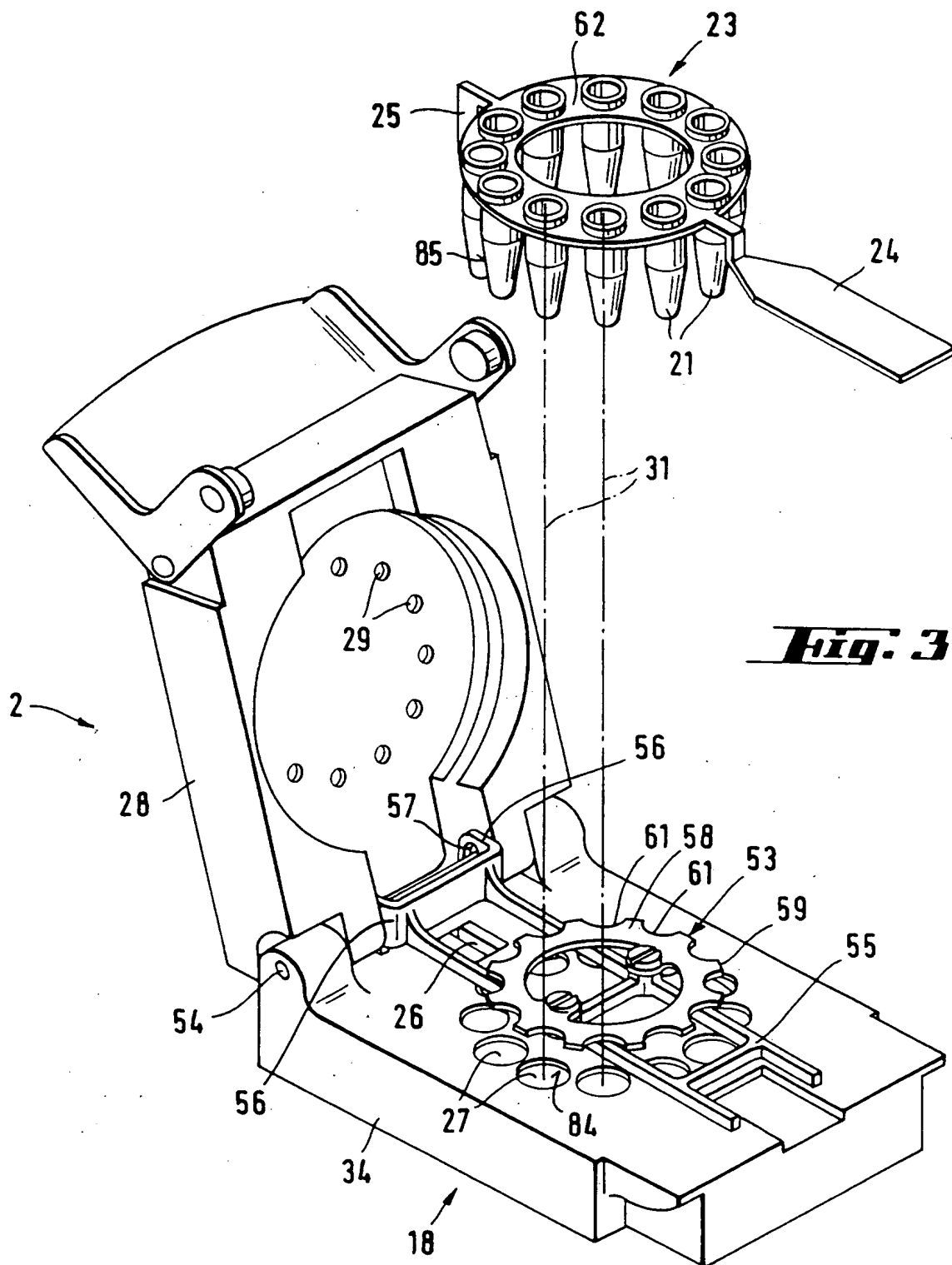
7. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie ferner ein Heizelement (35) enthält, das um den Träger und entlang des Umfangs seiner zylindrischen, äusseren Wand angeordnet ist.
8. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie ferner Mittel zur Erkennung einer Markierung (25) einer Anordnung von Proberöhrchen (21) enthält.
9. Vorrichtung gemäss Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass sie ferner eine Aushebevorrichtung zur Erleichterung der Entnahme der Proberöhrchen (21) aus den Kammern (27) im Träger (33) enthält, welche Aushebevorrichtung einen Auswurfhebel (55), der an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels (28) verbunden und am anderen Ende frei ist, und eine Auswurfscheibe (58) enthält, die mit der Rotationssymmetrieachse des Trägers (33) konzentrisch ist, auf dem Auswurfhebel (55) befestigt ist und an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen (61) hat, die zur Entnahme der Proberöhrchen (21) aus den Kammern (27) dienen.





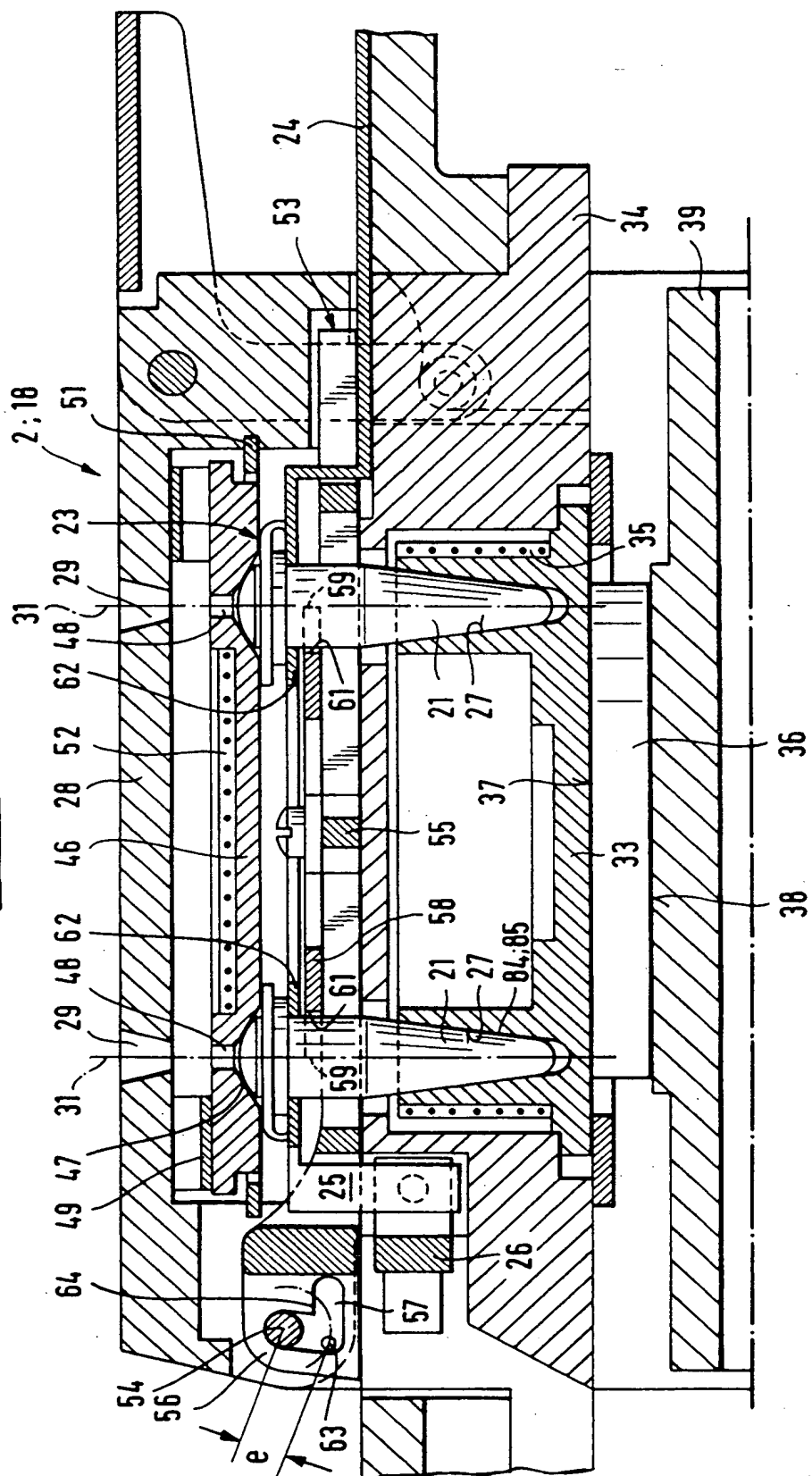


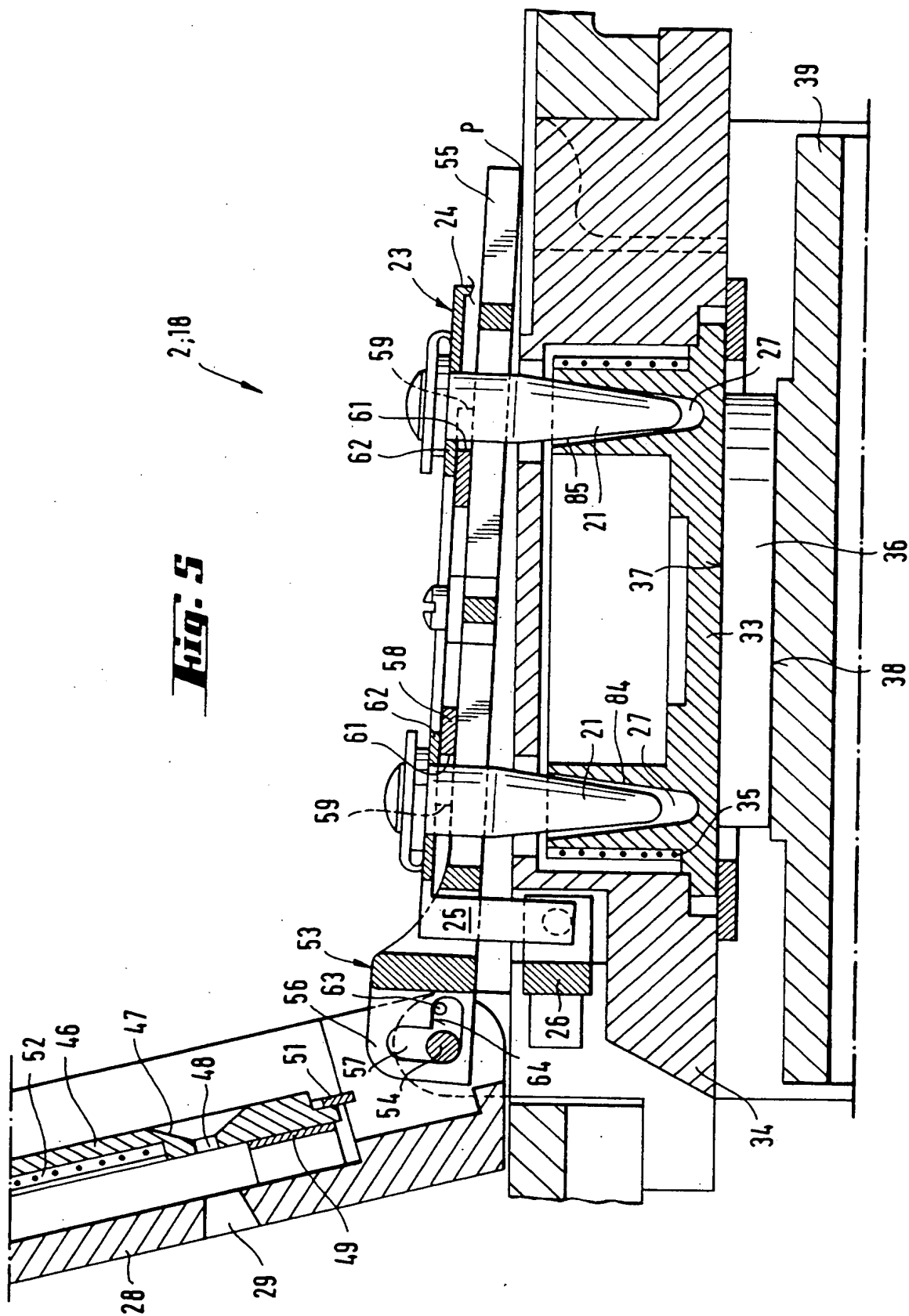
**Fig. 2**



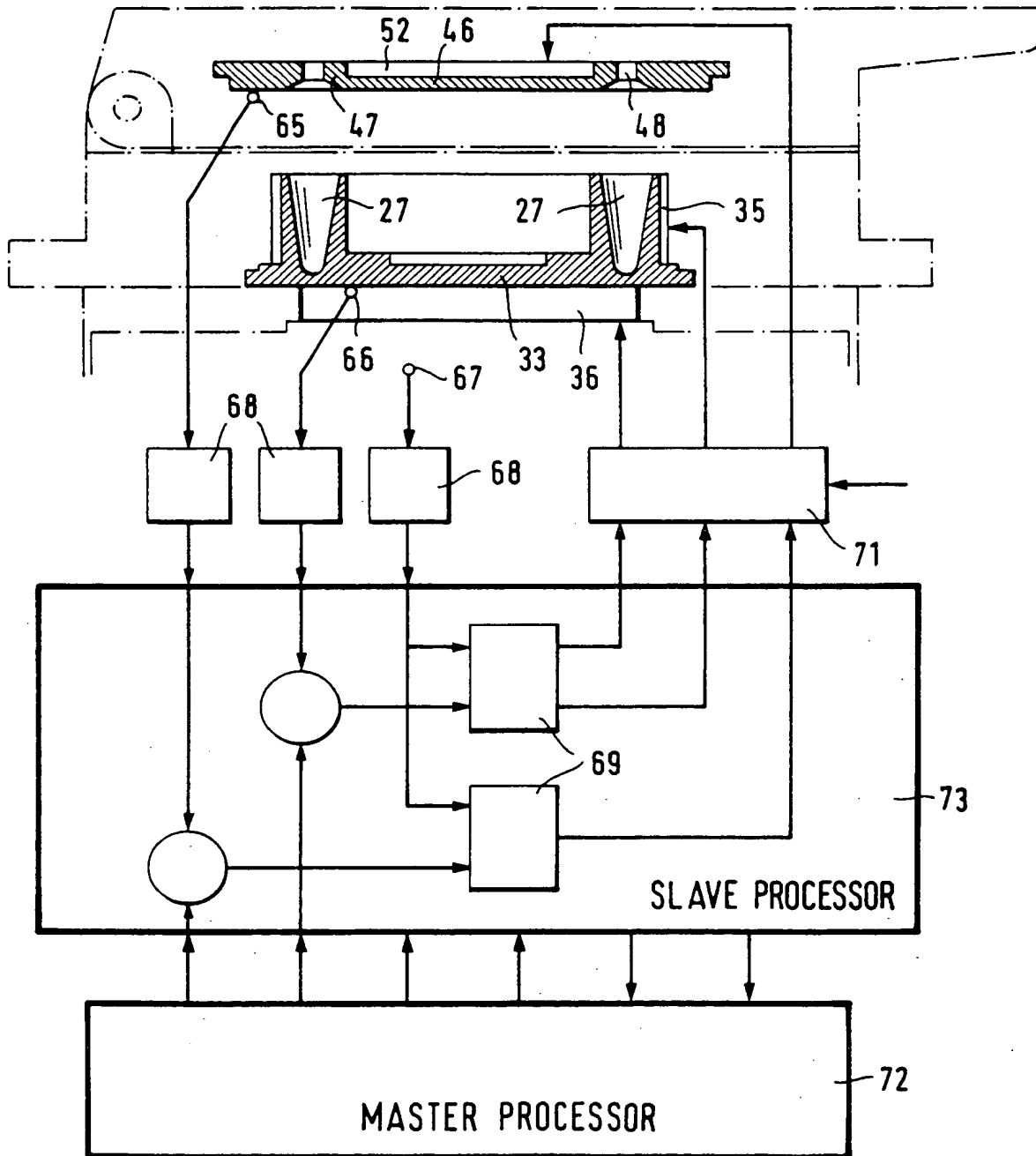
**Fig. 3**

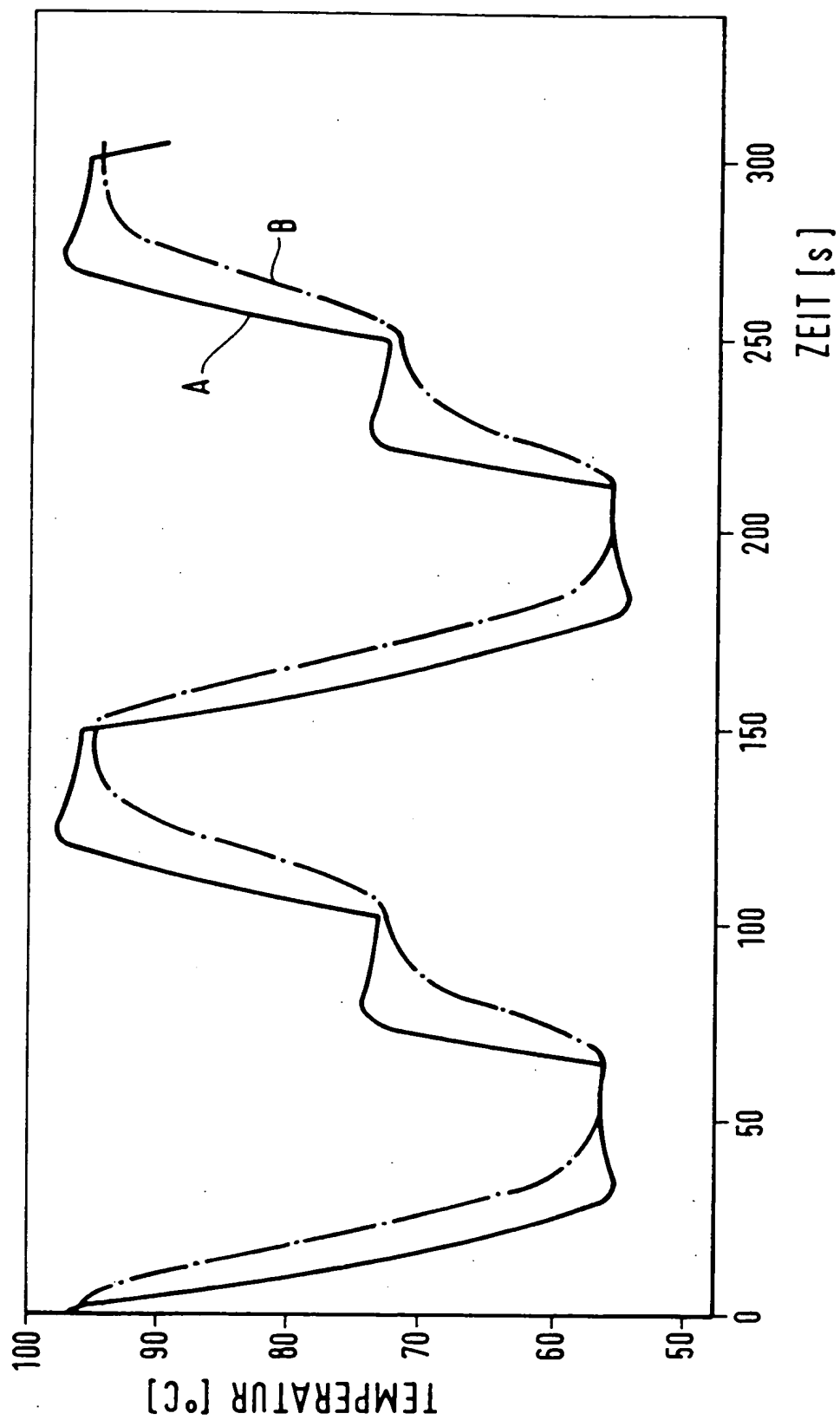
**Fig. 4**

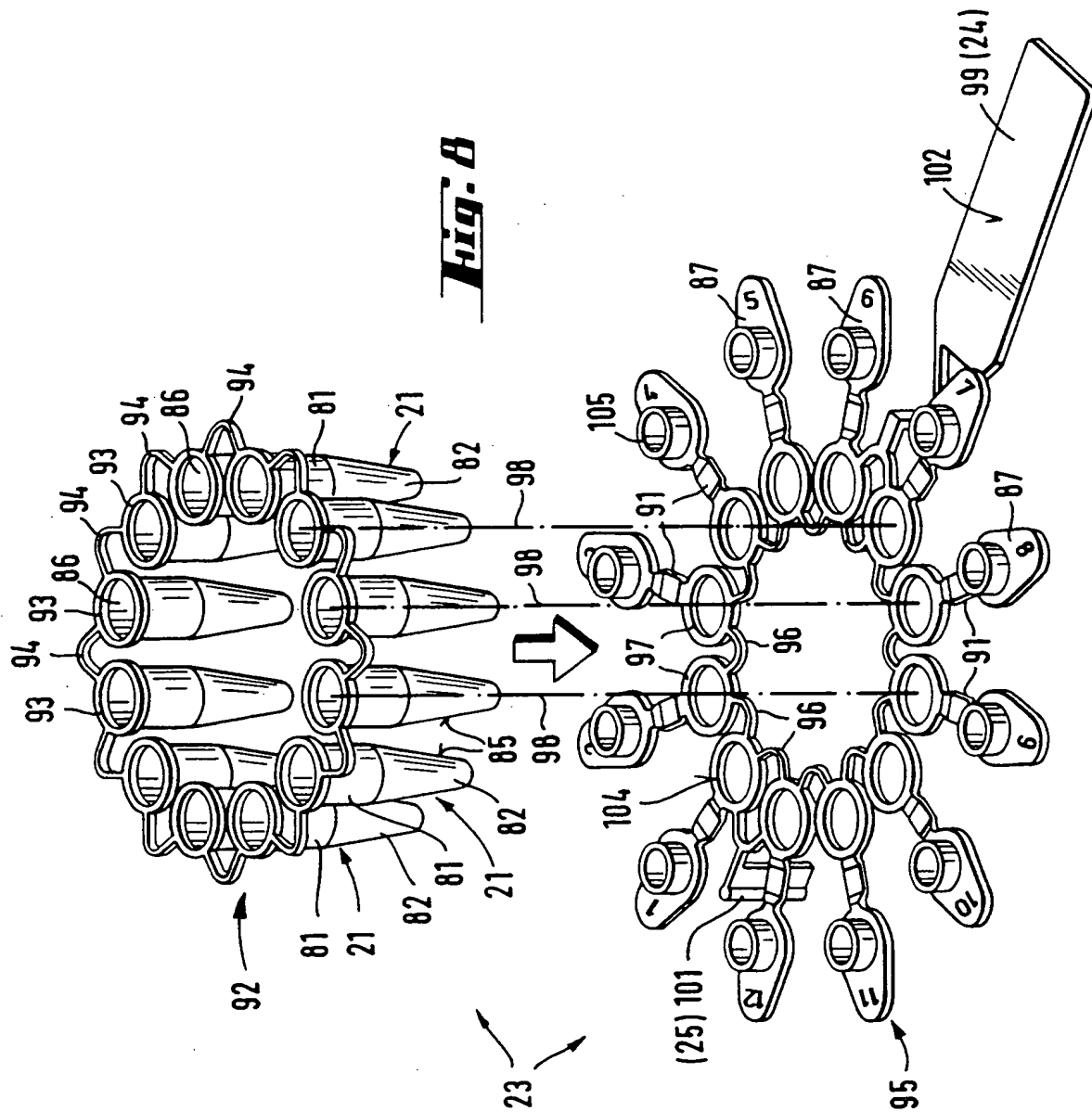




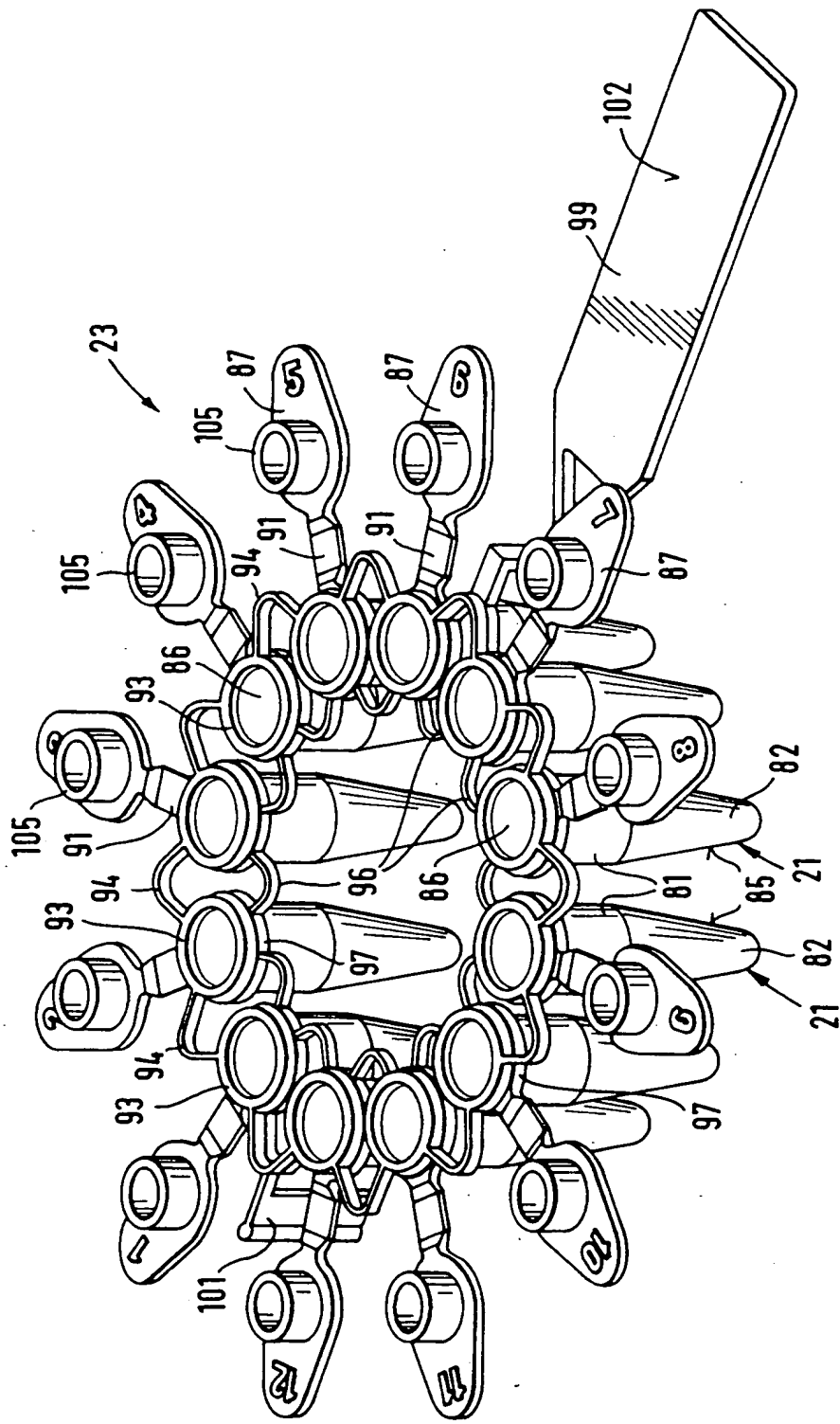
**Fig. 6**



**Fig. 1**

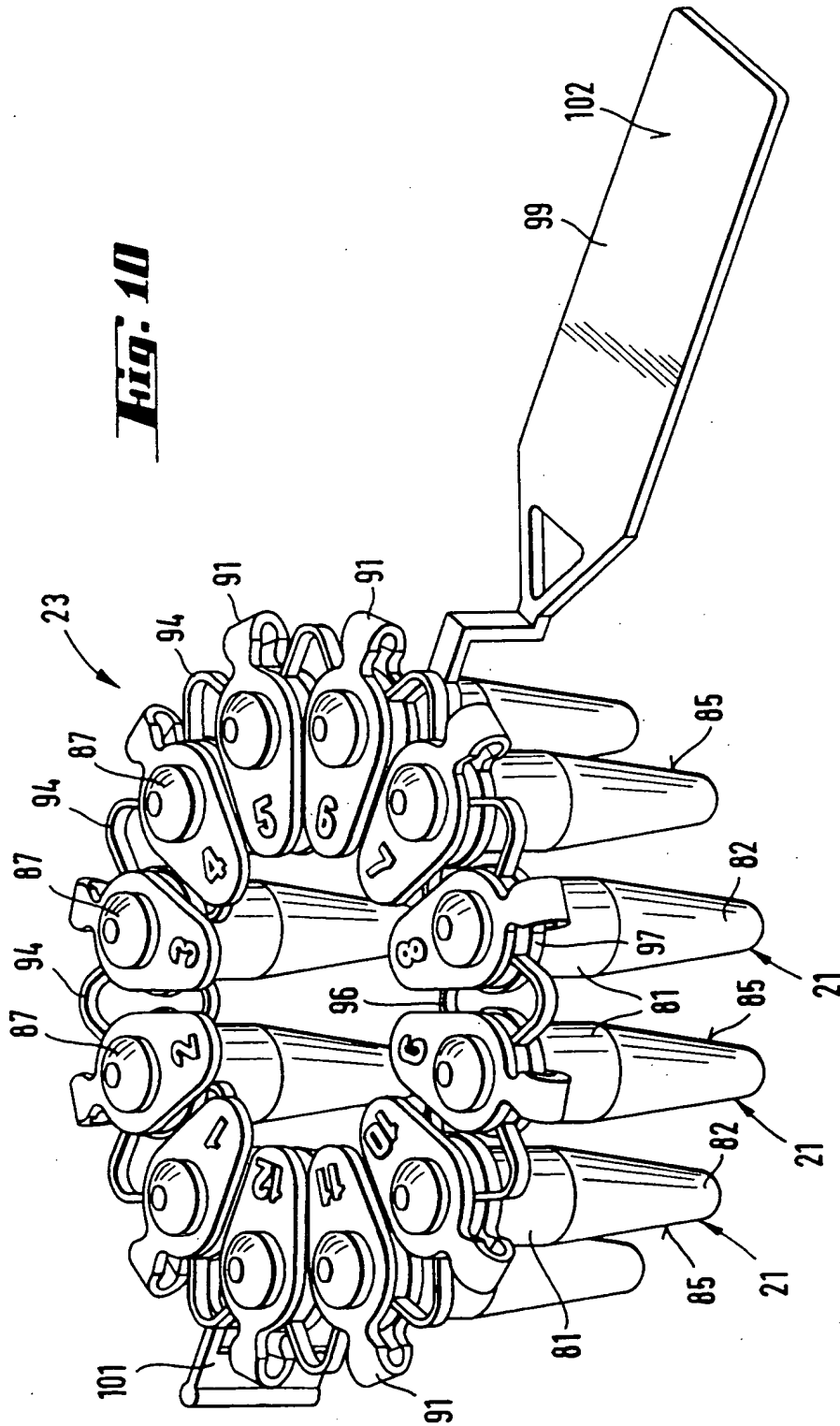


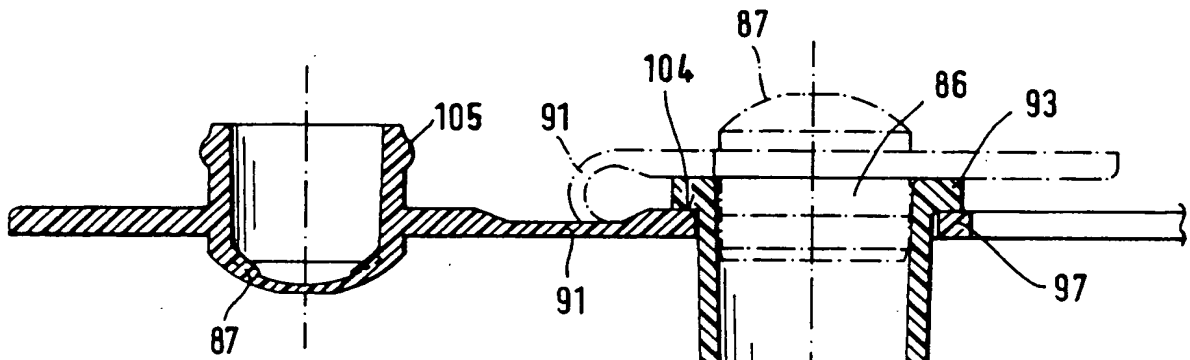




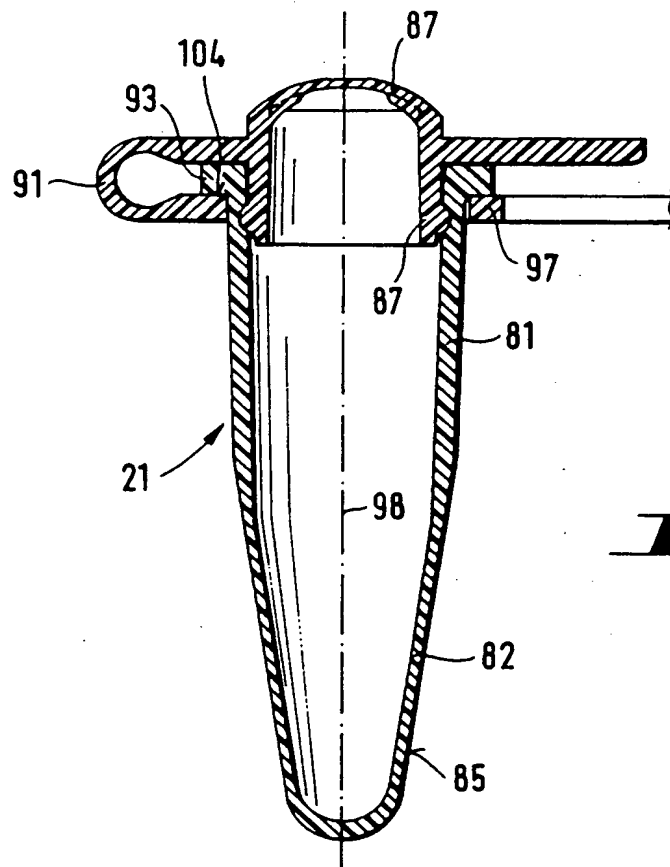
**Fig. 9**

**Fig. 10**

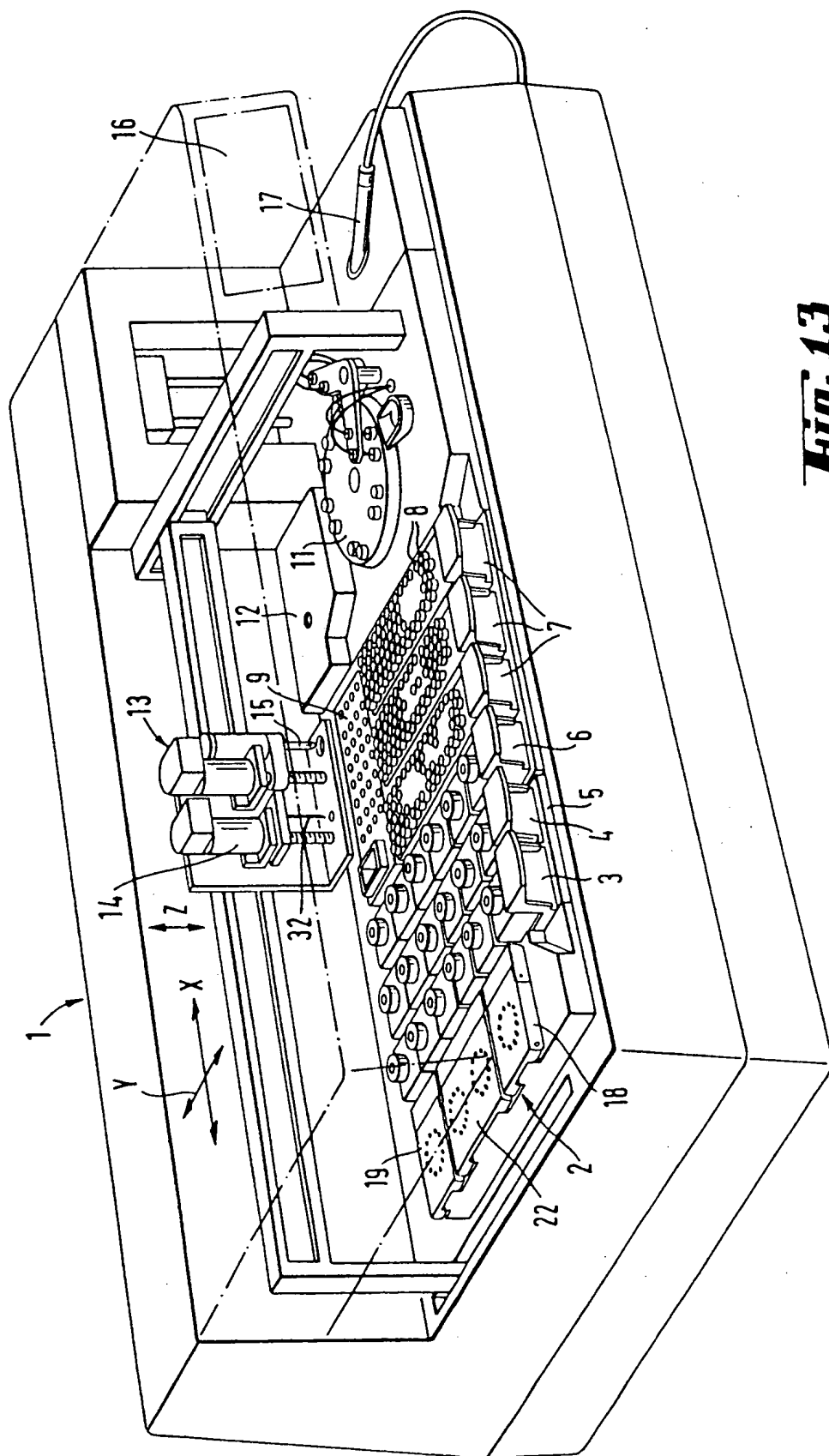




**Fig. 11**



**Fig. 12**



**Fig. 13**



Europäisches  
Patentamt

## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 94 11 3574

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
Y	EP-A-0 488 769 (PERKIN-ELMER CETUS INSTRUMENTS)	1,2,7	B01L7/00 B01L9/06
A	* Seite 4, Zeile 21 - Seite 5, Zeile 40 * * Seite 7, Zeile 19 - Seite 8, Zeile 55 * * Seite 12, Zeile 1 - Zeile 29 * * Seite 22, Zeile 52 - Seite 24, Zeile 31 * * Seite 27, Zeile 30 - Seite 29, Zeile 35 *	3-6,9	
Y	WO-A-92 20778 (KINDCONI PTY LTD) * Seite 6, Zeile 2 - Seite 8, Zeile 2; Abbildungen *	1,2,7	
A	RADIO AND ELECTRONIC ENGINEER, Bd.42, Nr.9, September 1972, LONDON GB Seiten 391 - 401 WYLD 'An automatic biochemical analyser' * Seite 397; Abbildung 8 *	1,7	
A	DE-U-88 04 938 (DEUTSCHE METROHM GMBH) * Seite 6, Zeile 35 - Seite 9, Zeile 6 *	1,9	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
A	US-A-4 865 986 (COY ET AL.) * Spalte 2, Zeile 26 - Spalte 4, Zeile 20 *	1,2,7	B01L G01N
A	WO-A-91 18551 (AVL MEDICAL INSTRUMENTS AG) * Seite 5, Zeile 31 - Seite 6, Zeile 10; Abbildung 1 *	1,5	
A	DE-A-30 24 210 (NORDDEUTSCHE SEEKABELWERKE AG) * Seite 5, Zeile 23 - Seite 8, Zeile 10; Abbildung *	1,9	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchemort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	
DEN HAAG	7. Dezember 1994	BINDON, C	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument I : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**